日本生物学オリンピック 2014　つくば

予備体験

マイクロピペット、電気泳動装置、小型遠心器の使い方と実践

時間 60 分

注意事項
機器の使用法でわからない点があれば、スタッフに質問してください。

サンプルと器具類

□にチェック✔を入れながら確認して下さい。不足している場合は挙手により知らせて下さい。

サンプル、試薬類

- □ DNA 溶液（1 本）
- □ キシレンシアノール溶液（緑色シール：1 本）

器具

- □ マイクロピペット（P200・P20：各 1 本）
- □ ピペットチップ（黄色：2 人あたり 1 箱）
- □ ストップウオッチ（2 人あたり 1 個）
- □ 電気泳動装置及びアガロースゲル（2 人あたり 1 セット）
- □ 小型遠心器（2 人あたり 1 個）
- □ 手袋（必要であれば自分の実験セットから出して使ってください）

また、机の上においてあるキムワイプ、キムタオルは自由に使えます。

2 つのプラスチックビーカーは廃棄物用に使ってください。1 つはチップなどの固体用、もうひとつは液体用です。

手元にある試薬を使いきった場合は、挙手により知らせてください。

＜　マイクロピペットの使い方　＞

マイクロピペット（図 1）は 1.0 mL（= 1000 μL）以下の微量の液体を測りとる時に用います。今回使用するマイクロピペット P1000、P200、P20（プッシュボタンに書かれています）では、それぞれ 200 μL〜1000 μL、50 μL〜200 μL、2 μL〜20 μL の容量を測りとることができ、目盛り調節ダイアルを回して測りとる容量を設定します。プッシュボタンを上下させることにより本体内の空気を動かすことで液体を吸い上げたり排出したりできる構造になっています。

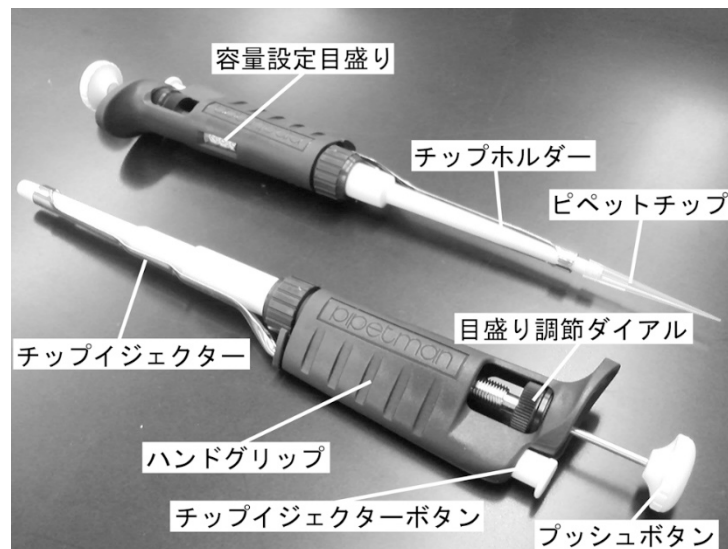



図１　マイクロピペット（手前: P1000、奥: P200 ピペットチップ装着）

1）目盛り調節ダイアルを回して測りとる容量にセットする（図 2 参照）。ダイアルはゆっくり回す必要はないので手早く設定容量にセットする。

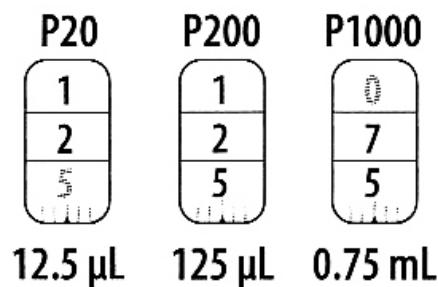



図２　マイクロピペットの容量設定目盛り
（GILSON 社 PIPETMAN 取扱説明書より）

2）親指でプッシュボタンを押せるように片手でハンドグリップを握る。チップイジェクターボタンが手のひら側の向きになるように握る。

3）ピペットチップが入った箱（チップラック、図3）のふたを開け、ピペットチップにチップホルダーの先端を差し込んで装着する。P1000は白色、P200とP20は黄色のピペットチップを使用する。ピペットチップとチップホルダーの間から空気が漏れないように、装着したピペットチップでチップラックを**軽く**トントンと叩くようにしてしっかりと装着する。装着後チップラックのふたを閉める。

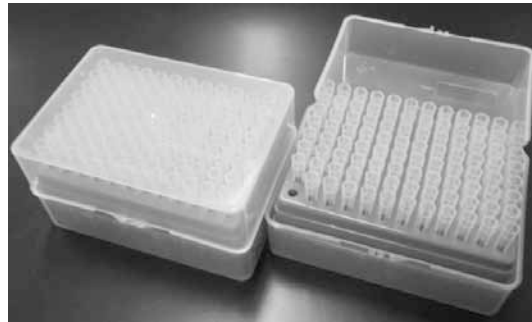



図３　チップラック

4）プッシュボタンを第一ストップ（図4）まで押し込み、その状態のままピペットチップの先端を液につけ、**ゆっくり**かつ**滑らか**にプッシュボタンをトップまで戻すことで液を吸い上げる。

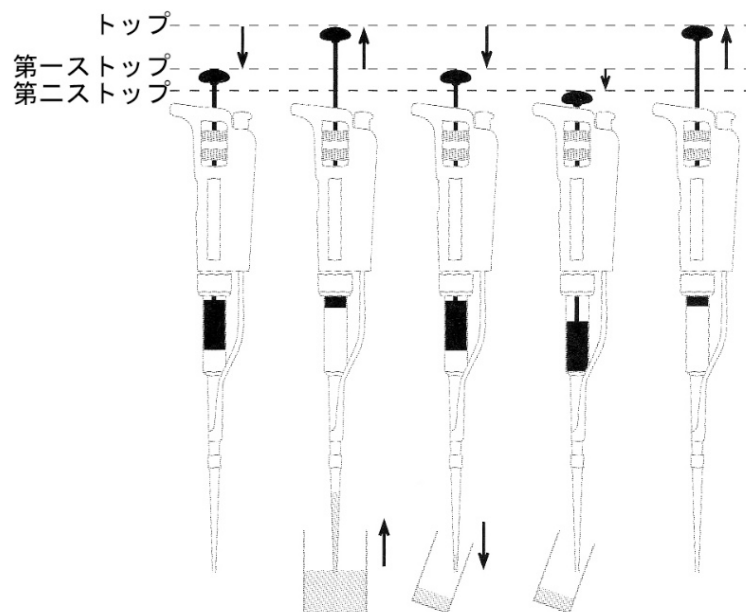



図４　プッシュボタンの動かし方

（GILSON社 PIPETMAN取扱説明書より）

5）ピペットチップの先端を液を移す容器に入れ、プッシュボタンをゆっくりと第一ストップまで押し下げて液を排出する。第一ストップで一度止めたプッシュボタンを続けて第二ストップまで強く押し下げ、ピペットチップ内に残った液を**完全に**排出する。

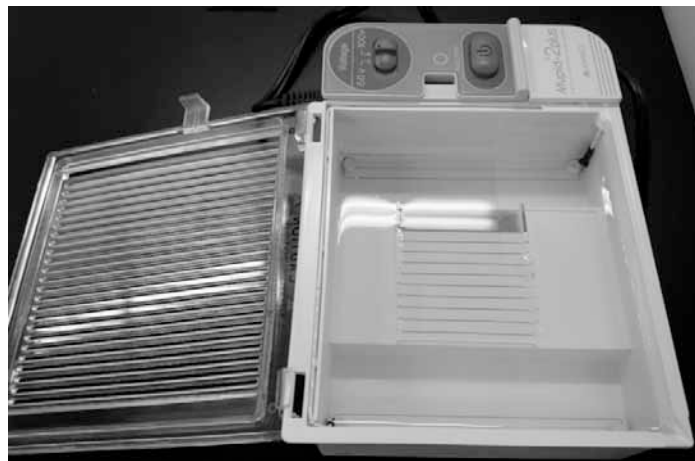
6）プッシュボタンをトップまでゆっくりと戻す。

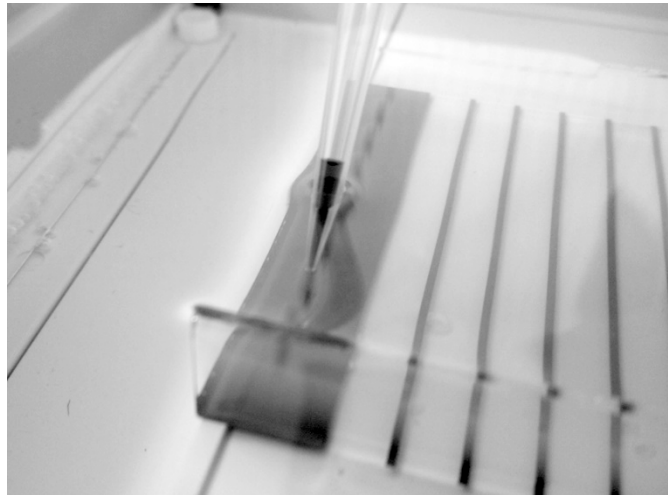
７）イジェクターボタンを親指で押してピペットチップを取り外す。ピペットチップは測りとる液体が変わるたびに使い捨てる。

注意点）

・ 必ずピペットチップを装着して液を吸い上げること。
・ 液を吸い上げた状態でマイクロピペットを逆さまにしないこと。
・ 液を吸い上げる際に、マイクロピペット本体まで液を吸い込まないよう注意してゆっくり操作すること。特に吸い上げ途中でプッシュボタンから指を離すことは絶対にしないこと。ただし、ゆっくり動かしすぎてシリンダーの移動がスムーズでない場合は測りとる量の正確性が損なわれるので、滑らかに動かすよう注意する。吸い上げ開始から完了まで 1～2 秒かけるのが適正な速度である。また、マイクロピペット作業中に本体まで液を吸い込んでしまった場合はすみやかに挙手し、アシスタントに知らせること。

＜　電気泳動装置の使い方　＞

１）泳動槽の中央にプラスチックトレイ付のゲルがあり、浮き上がっていないことを確認する。

DNA は泳動槽に通電すると陽極側に移動するため、ゲルのウェル（穴）が陰極側になる方向で使用する（プラスチック製のカバーにプラスとマイナスで表記されている）。

2）泳動しようとするサンプル溶液に対してピペットチップを装着したマイクロピペットで 1/10 量のキシレンシアノールを加え、吸い上げと排出を数回繰り返すことによりよく混合する。
3）小型遠心機によりサンプル溶液をマイクロチューブの底に集める。
4）ピペットチップを装着したマイクロピペットを用いて泳動しようとするサンプル溶液を泳動ゲルのウェルに**静かに**入れる。キシレンシアノールの比重が重いため、サンプル溶液はウェルの底に沈む。

この作業によりゲルが泳動槽の中を移動した場合は、手袋をした手で泳動槽の中央に移動させる。
5）プラスチック製のカバーをして、100 V の電圧設定であることを確認したらスイッチを入れ泳動を開始する。

注意点）
・ 通電中は泳動槽に指などを入れないこと（感電注意）。
・ 泳動しようとするサンプル溶液をウェルに入れる際、ウェルの底をピペットチップの先端で破らないように注意すること。
・ プラスチックトレイからゲルが外れても泳動槽の中央にゲルがあれば泳動可能であるため、注意深く位置を戻すこと。
・ ゲルが動かないように泳動中は泳動槽を動かさないこと。
・ 泳動時の電圧設定に注意すること（今回は 100 V 設定）。

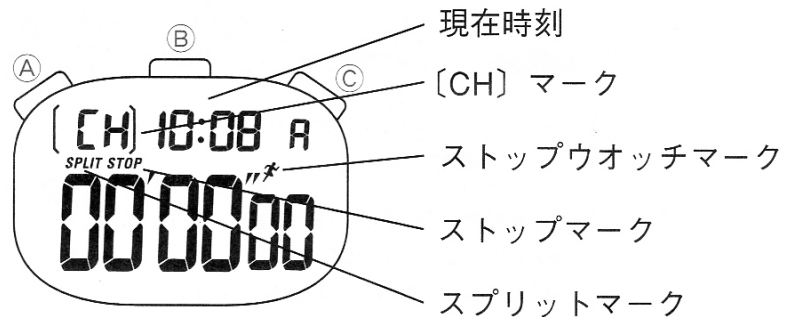
＜　小型遠心機の使い方　＞

１）遠心したいサンプルを小型遠心機にセットする。その際スムーズに回転するように回転軸を中心として**対角線上になるよう**サンプルをセットすること。

２）ふたを閉じて横にあるスイッチを入れて回転させる。
３）５秒程度回転させたらスイッチを切り、回転が止まったらふたを開けてサンプルを回収する。

注意点）
・ 安全のため回転中はふたを開けないこと。

＜　ストップウオッチの使い方　＞

1）ボタン B を何度か押して画面左上の表示を「CH」にする。

2）ボタン A を押して表示を「00’00’00」にリセットする。
3）ボタン C を押して計測を開始する。ストップウオッチマークが点滅し、デジタル表示の加算がスタートする。
4）ボタン C を再度押して計測を終了する。ストップマークが点灯し、デジタル表示の加算がストップする。
5）再度使用する場合はボタン A を何度か押して表示を「00’00’00」にリセットする。

注意点）

・ 計測中に間違えてボタン A を押してもデジタル表示はストップする。その際にはストップウオッチマークとスプリットマークが両方とも点滅している。計測を終了したい場合はその数値を計測時間とする。誤って計測中にボタン A を押してしまった場合は、もう一度ボタン A を押すことで復帰できる。戻るまでの時間も計測は継続されている。